*Ann. Phytopathol.*, 1969, **1** (3), 449-472.

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU *LOPHODERMIUM PINASTRI* (SCHRAD.) CHEV. : RÉSULTATS DES CAPTURES DE SPORES EN 1967

L. LANIER, G. AUSSENAC
avec la collaboration technique de M. MORELET

*Laboratoire de Pathologie,*
*Station de Sylviculture et de Production,*
*Centre national de Recherches forestières, 54 - Nancy*
*Institut national de la Recherche agronomique*

---

## SOMMAIRE

Le présent travail analyse les résultats des récoltes d'ascospores obtenues à l'aide d'un piège à spores de HIRST dans le cas du *Lophodermium pinastri*. Les vols de spores sont en étroite corrélation avec les précipitations, ce qui confirme d'autres observations sur le terrain et au laboratoire.

---

## INTRODUCTION

Différentes méthodes sont actuellement appliquées ou envisagées pour lutter contre le Rouge cryptogamique du Pin sylvestre dû au *Lophodermium pinastri* (SCHRAD.) CHEV. qui peut causer dans l'est de la France et en Europe moyenne — surtout au cours des années aux étés humides — des dégâts considérables.

Malgré les espoirs suscités par le choix de provenances résistantes, qui ne sont malheureusement pas toutes adaptées à nos conditions climatiques (SCHÜTT, 1964), par l'amélioration physiologique résultant de l'emploi de fertilisants (ZÖTTL, JUNG, 1964 ; LANIER, 1965), de très nombreux travaux (JANCARIK, 1965 ; MENZEL, 1959, RACK, 1965) ont eu pour but de perfectionner l'emploi des produits chimiques. Certains d'entre eux, les dithiocarbamates en particulier, ont manifesté une bonne efficacité, mais celle-ci est malheureusement fonction directe de leur rémanence, qui ne peut être garantie que pendant un temps limité.

En nous inspirant des travaux d'épidémiologie conduits en France et ailleurs, en

particulier sur les Tavelures des arbres fruitiers, nous avons pensé que l'efficacité des traitements serait bien meilleure si l'on pouvait faire coïncider ces derniers avec les vols principaux d'ascospores, aux époques où les contaminations sont les plus à craindre.

## I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

Après divers essais, notre matériel de base a été constitué de la façon suivante :

Un piège à spores du modèle de HIRST (HIRST, 1952) dont les avantages et les inconvénients seront discutés dans le chapitre III, mais qui présente à notre sens l'intérêt fondamental de fournir une estimation chiffrée et relativement sûre du potentiel infectieux, a été installé en forêt de Haguenau dans une petite clairière de 5 m de diamètre, au milieu de pins d'environ 8 ans. Son orifice placé à 0,50 m de la surface du sol se trouvait à une hauteur correspondant à la zone d'action préférentielle du *Lophodermium pinastri*, c'est-à-dire dans la zone des plus anciennes aiguilles chez les pins de 3 à 5 ans et à hauteur de l'ensemble des surfaces foliaires des pins plus jeunes.

Le fonctionnement de l'appareil est connu. La fixation sur la surface vaselinée est d'autant plus aisée dans le cas du *L. pinastri* que chez cette espèce les ascospores sont entourées d'une gaine mucilagineuse elle-même adhésive. Le changement de lame est journalier, vers 9-10 h du matin, et pratiqué en même temps que les relevés des instruments météorologiques groupés en un abri classique : ils comportent un thermomètre enregistreur, contrôlé par un thermomètre à minima et un à maxima, un hygromètre enregistreur, un pluviomètre (malheureusement non enregistreur) et un baromètre. L'enregistrement de l'instant précis des pluies et de la vitesse instantanée des vents nous a manqué considérablement.

Les lames sont fermées avec des lamelles de 55 mm selon la méthode préconisée par HIRST, stockées et examinées sans coloration. Le contraste de phase s'est avéré très utile pour différencier les spores hyalines du *L. pinastri*.

### *Comptage des spores*

C'est l'opération la plus délicate : relativement aisée lorsqu'on s'adresse à des spores caractéristiques comme celles des *Alternaria*, des *Cladosporium* ou même des *Venturia*, elle l'est beaucoup moins lorsqu'on veut étudier des spores filiformes qui, ainsi que l'a noté HIRST (1953) dans ses premières observations, se projettent fréquemment ensemble et ne sont pas toujours faciles à reconnaître. Tout récemment PAWSEY (1967), dans le cas du *Naemacyclus niveus* (PERSOON ex FRIES) SACC., signalait ce danger de confusion avec des spores de champignons tels que le *Lophium mytilinum* PERSOON. Nous avons relevé quelques champignons signalés dans RABENHORST et WINTER, en nous limitant aux Ascomycètes et aux matrices fréquentes dans notre peuplement de pins. On trouvera en annexe cette liste non limitative. Pour éviter cet obstacle et les confusions toujours possibles, deux critères ont été utilisés dans les cas douteux : d'une part la taille des spores du *L. pinastri* (1) et d'autre part une caractéristique essentielle, que nous avons mieux vue à cette occasion, à savoir que les spores, bien que globalement filiformes, sont acuminées à une extrémité et émoussées à l'autre (fig. 8 et 9). Ces observations et l'abondance incontestable des ascospores du *L. pinastri* à certaines époques, due à la situation du piège, ont réduit considérablement le risque d'erreur.

Dans la pratique, le comptage s'est déroulé en trois temps :

— d'abord un passage longitudinal attentif sur la lame pour repérer les zones où existent des ascospores ;

— puis le repérage de l'heure précise en déposant sur la lame une lamelle graduée d'heure en heure et un choix des zones où la densité des spores est suffisante ;

— enfin un échantillonnage par petites surfaces au micromètre oculaire avec déplacement de la lame dans la période intéressante, à raison de dix répétitions par heure. (Étant donné la longueur des spores, de l'ordre de 90-120 $\mu$, et la relative étroitesse du rectangle micrométrique, 300 $\times$ 200 $\mu$, de nombreuses spores coupent les limites. On a compté uniquement celles dont plus de la moitié se trouve à l'intérieur du rectangle.)

(1) Une projection de spores obtenue au laboratoire par la méthode classique (LANIER, 1968) servait de référence (figure 9).

## II. — RÉSULTATS

Les conditions d'activité des ascospores ont été élucidées dans une autre partie de la même contribution (LANIER, 1968). L'objet du présent travail est d'étudier les vols de spores, durant la saison 1967, en relation avec certains facteurs climatiques.

Les résultats sont présentés sous forme de graphiques, d'abord en considérant l'ensemble de la période étudiée (juillet à novembre 1967) (fig. 1 à 5), puis en détaillant heure par heure une semaine particulièrement intéressante (fig. 6). Des essais préalables et d'autres ultérieurs ont en effet montré qu'il y avait peu ou pas de récoltes jusqu'en juin et après la mi-novembre (fig. 5).

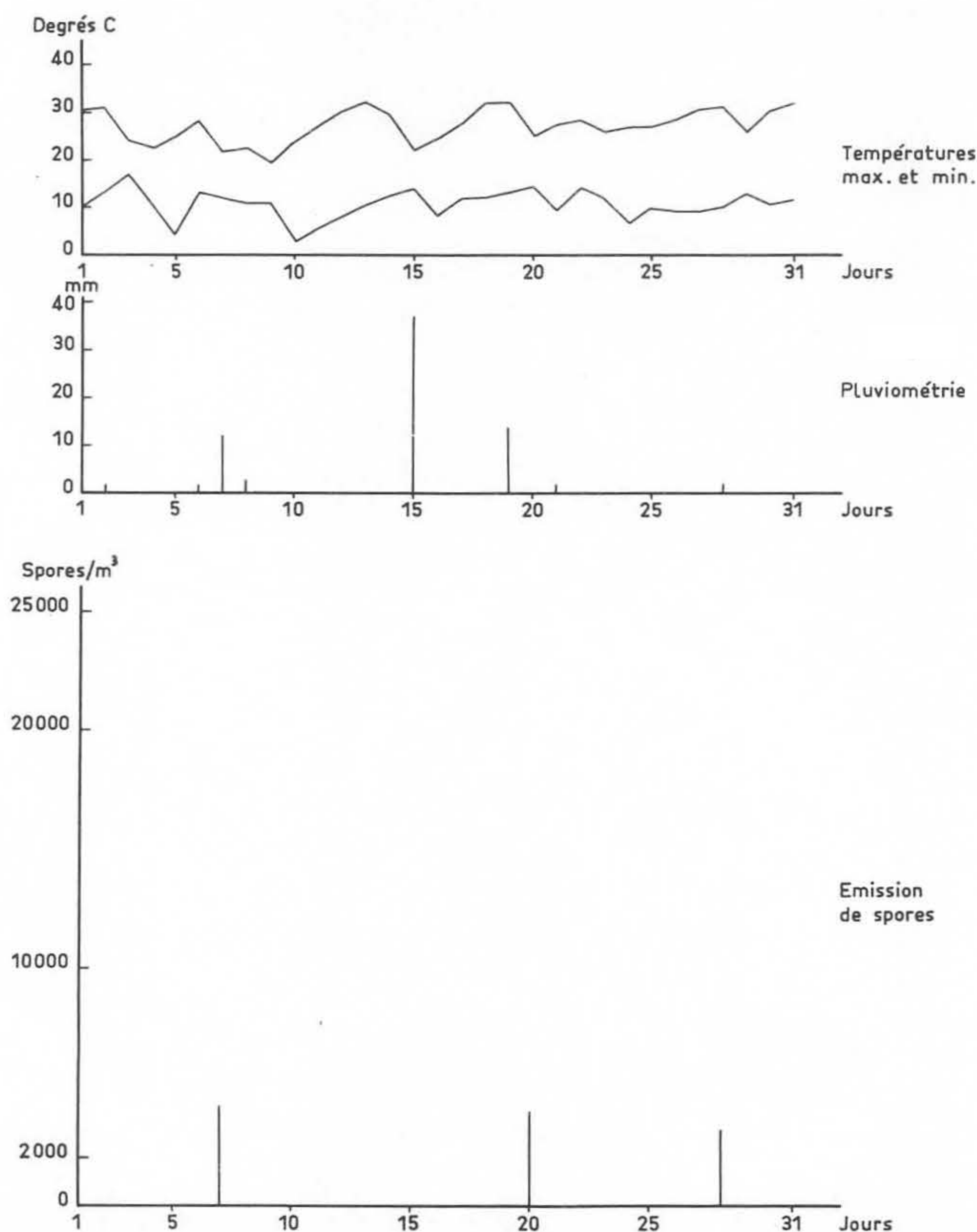



FIG. 1. — Juillet 1967
*Récoltes journalières globales des spores du* Lophodermium pinastri *et caractéristiques météorologiques*

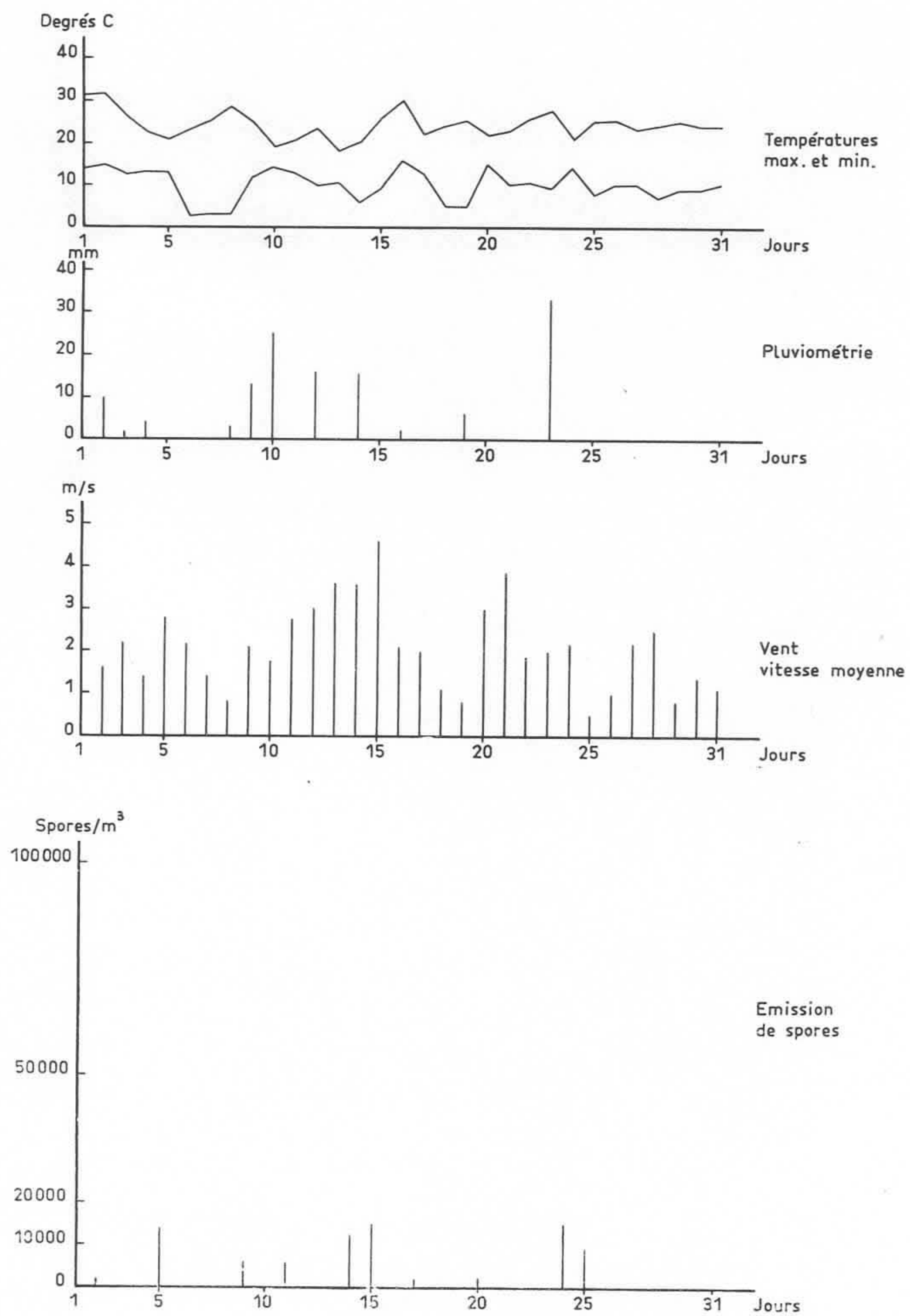



FIG. 2. — Août 1967

En regard des chiffres indiquant le nombre total de spores récoltées figurent les données météorologiques. Pour les journées détaillées heure par heure, on a reporté les températures et les degrés hygrométriques enregistrés ainsi que la quantité globale des précipitations, sans que puisse être précisée l'heure de ces chutes de pluie.

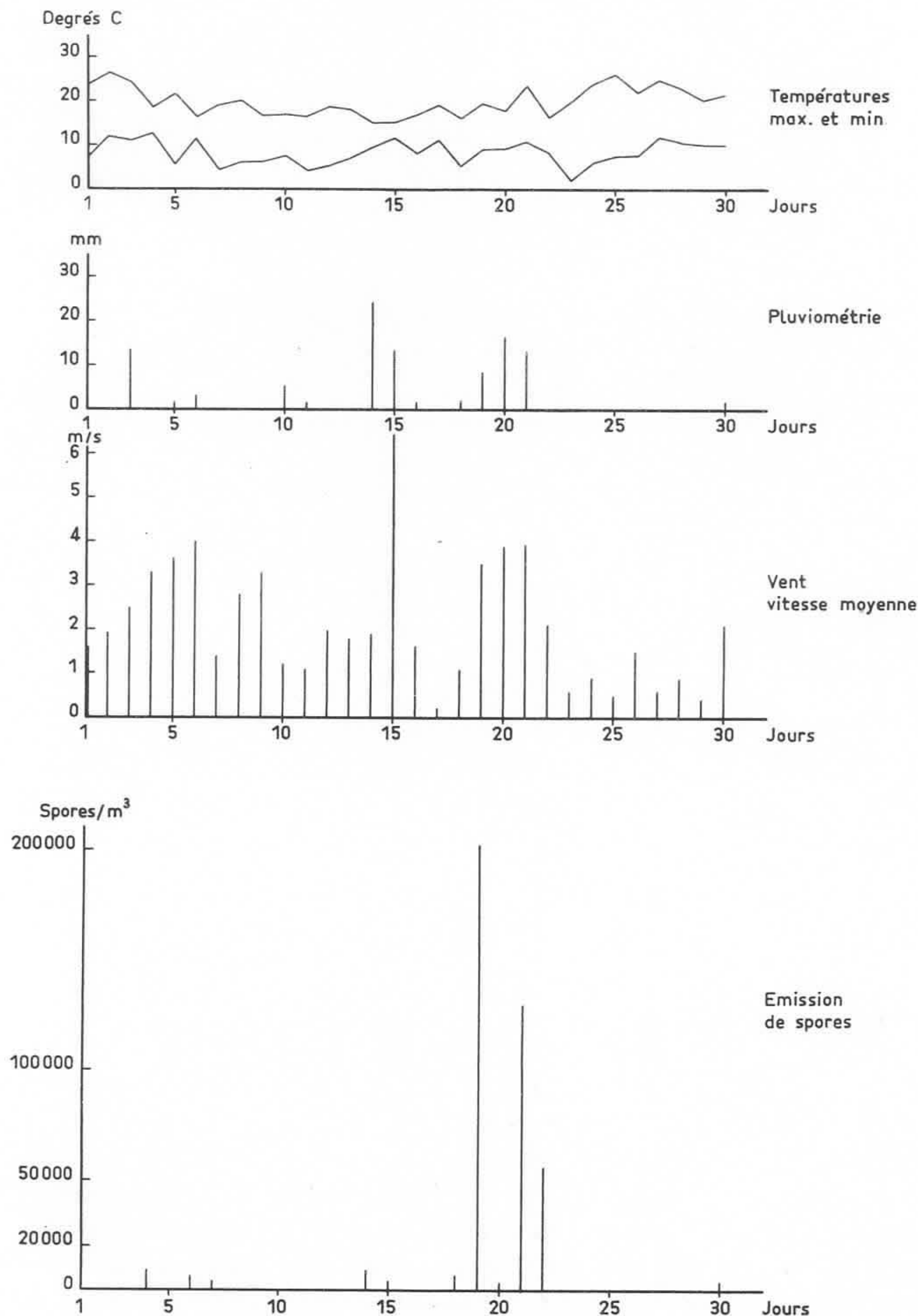



FIG. 3. — Septembre 1967

*Influence des facteurs climatiques sur la dispersion des spores*

Les figures montrent une correspondance quasi absolue entre les jours où il a plu et l'apparition des vols d'ascospores. En effet, il n'y a jamais de récolte d'asco-

spores lorsqu'il n'y a pas eu de précipitation dans la même journée ou dans le jour précédent. Ainsi de longues périodes, par exemple 9 au 14 juillet, 24 août au 2 septembre, laissent apparaître une absence de précipitations et une absence exactement correspondante d'ascospores dans le piège.

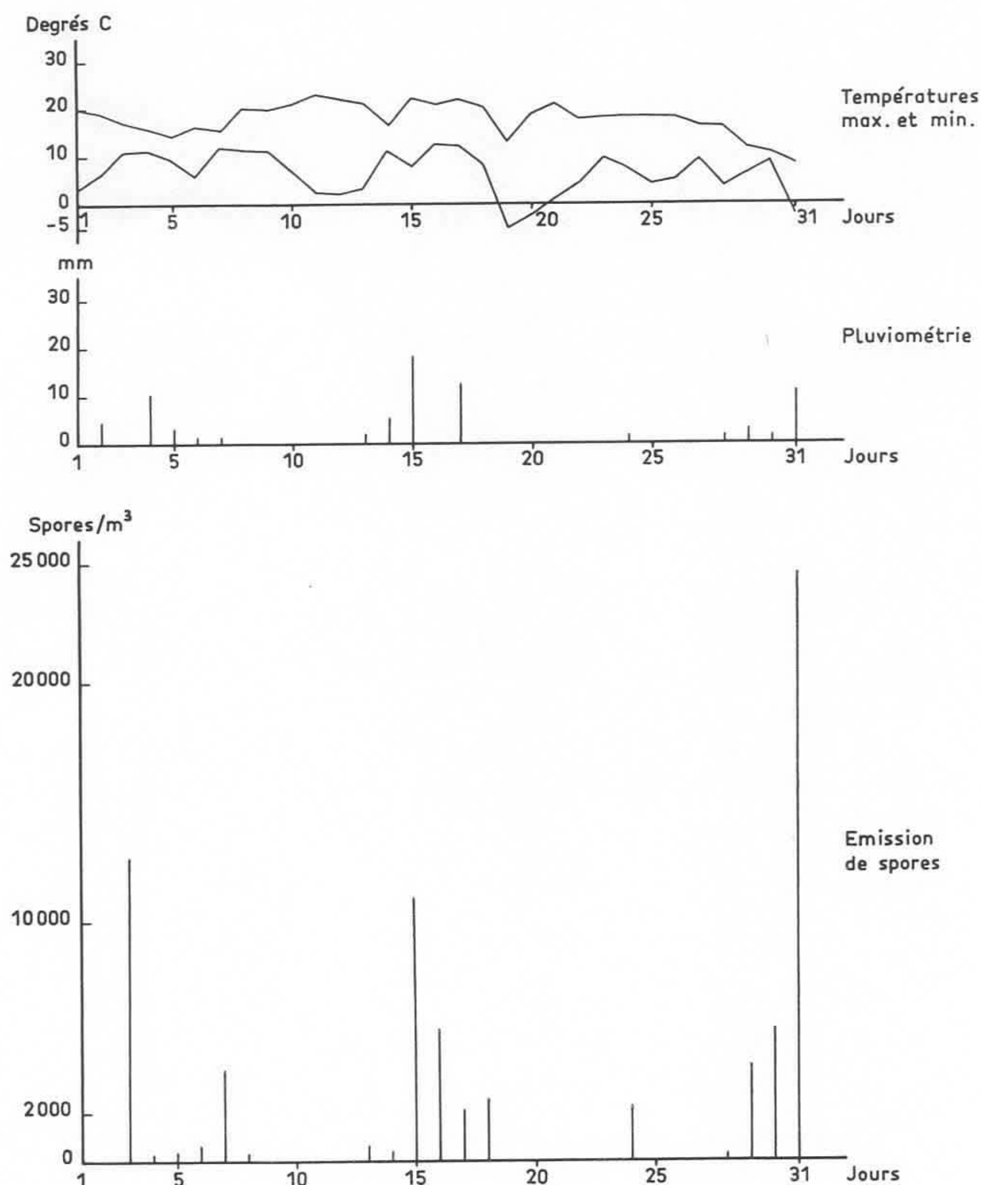



Fig. 4. — Octobre 1967

En revanche, les journées pluvieuses (par exemple 18 au 21 septembre, 28 au 31 octobre) coïncident — à la demi-journée près nécessaire à l'humectation des hystérothécies — avec des vols de spores qui se produisent soit pendant la période de pluie elle-même, soit dans les quelques heures qui suivent. La coïncidence est frappante et rejoint les observations déjà anciennes de Hirst (1953) et tout récemment de Pawsey (1967) dans le cas du *Naemacyclus niveus*. Cet Ascomycète à spores filiformes a le même habitat, les mêmes hôtes (*Pinus sylvestris*, *P. maritima*) et, semble-t-il, une biologie de la dissémination analogue à celle du *Lophodermium pinastri* ; nous avons noté à plusieurs reprises ses spores caractéristiques, biseptées, sur les lames du piège à spores de Hirst.

On a pu, pour les besoins de nos études sur les spores (LANIER, 1968), reconstituer au laboratoire les conditions artificielles qui reproduisent et expliquent les phénomènes naturels. Les hystérothécies se maintiennent entièrement closes tant que les aiguilles ne sont pas humectées et dans la nature, tant qu'il fait sec. Elles ne s'ouvrent,

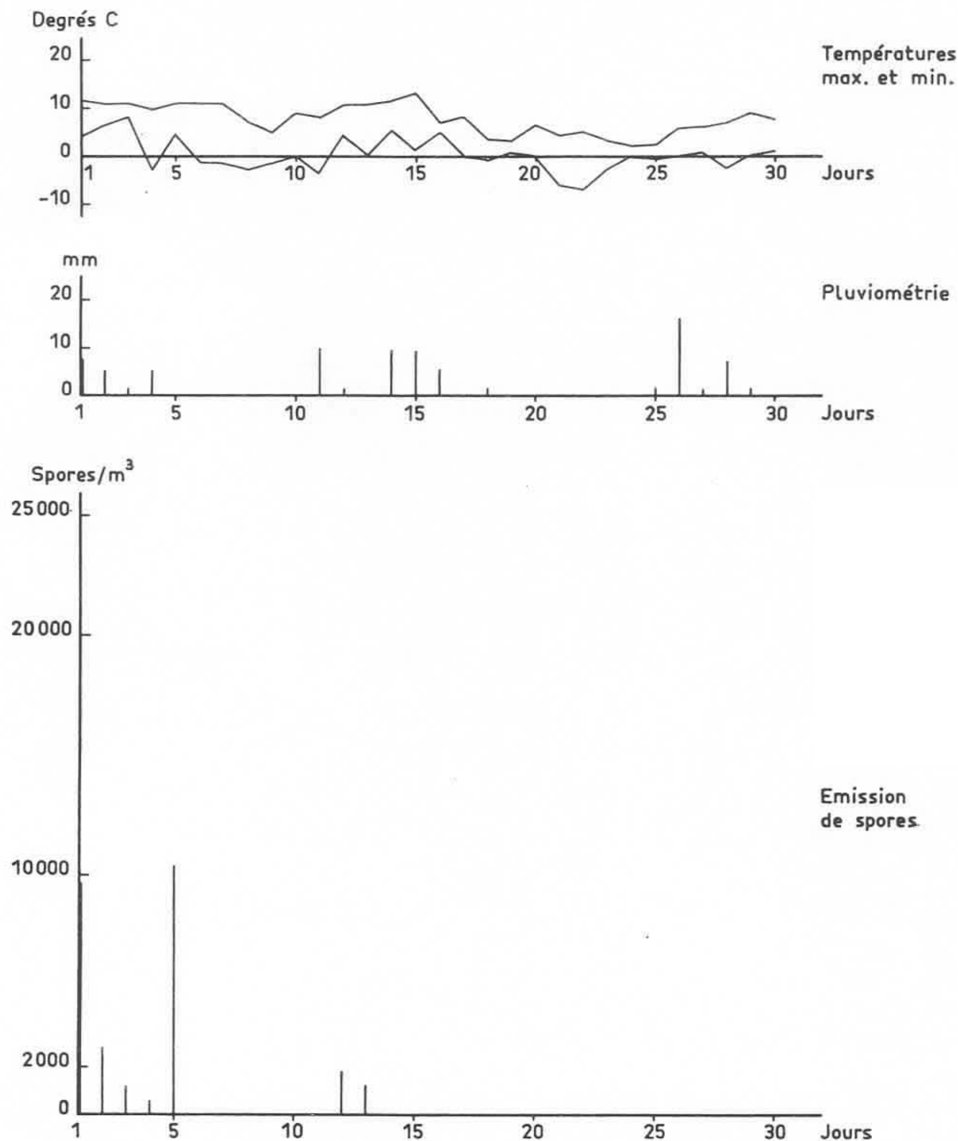



FIG. 5. — Novembre 1967

au laboratoire en chambre humide, qu'après une humectation qui ne doit pas durer moins de 6 à 8 heures (fig. 10).

L'évacuation des ascospores à partir des asques gonflés, phénomène que l'on peut observer sous la loupe binoculaire, se produit spontanément. Il est facilité par des pressions latérales exercées sur les parois de l'hystérothécie et également par une brusque diminution de l'état hygrométrique. L'ouverture des chambres humides suffit parfois à provoquer le phénomène. Ceci peut expliquer le fait que certains vols importants (19 et 21 septembre par exemple) se produisent, en respectant un délai de quelques heures, lorsque l'état hygrométrique diminue fortement.

Si la relation entre capture de spores et pluie est nette, on ne peut mettre en évidence de façon aussi catégorique une période de chaque journée pendant laquelle

il y a un plus grand nombre de spores. Pourtant en totalisant heure par heure pour la période d'observation les quantités de spores recueillies (voir histogramme fig. 7), on peut noter une certaine prédominance des heures de la première moitié de la nuit (19 à 24 h). Ceci peut d'ailleurs être lié simplement aux pluies d'été, souvent orageuses et se produisant l'après-midi, qui, 6 à 8 heures plus tard (humectation), permettent la dispersion des spores.

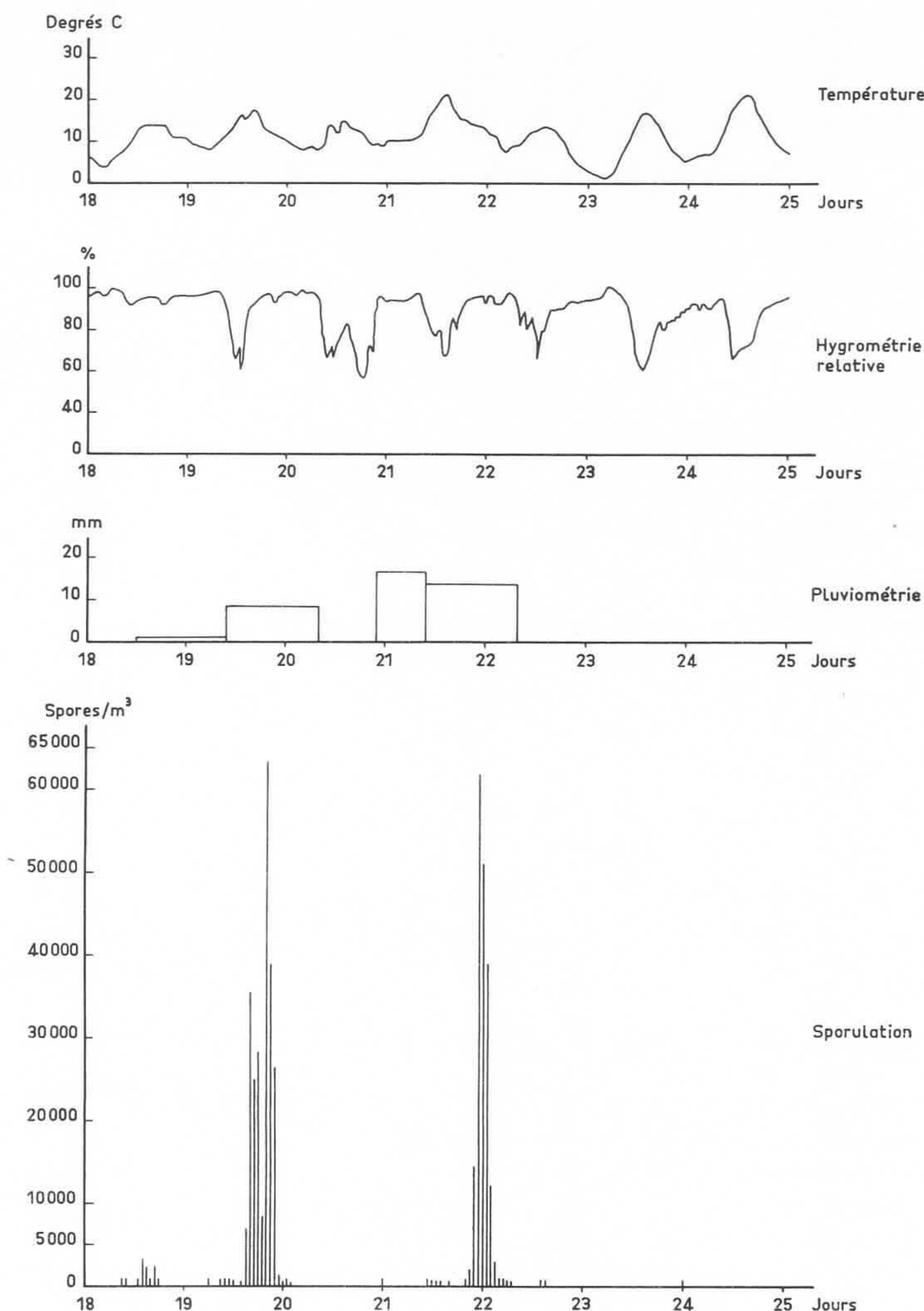



FIG. 6. — Semaine du 18 au 25 sepbtemre 1967
*Concentration horaire d'ascospores du* Lophodermium pinastri *et caractéristiques météorologiques correspondantes*

Une autre caractéristique intéressante à noter : les vols très importants (24 et 25 août, 19, 21 et 22 septembre, 31 octobre) mettant en jeu plus de 10 000 spores par mètre cube, sont *très rares* au cours de la saison de végétation. Ils ne semblent pas être liés à des pluies plus importantes que d'autres, mais font souvent suite à une période humide pendant laquelle l'humectation de la litière est parfaitement assurée.

L'analyse des relations entre la *vitesse moyenne du vent* et la récolte des spores ne montre pas de relation nette. Il est probable que les mouvements de l'air n'ont pas d'incidence directe sur le phénomène de libération des spores, quelle que soit leur importance évidente sur leur dissémination et leur transport.

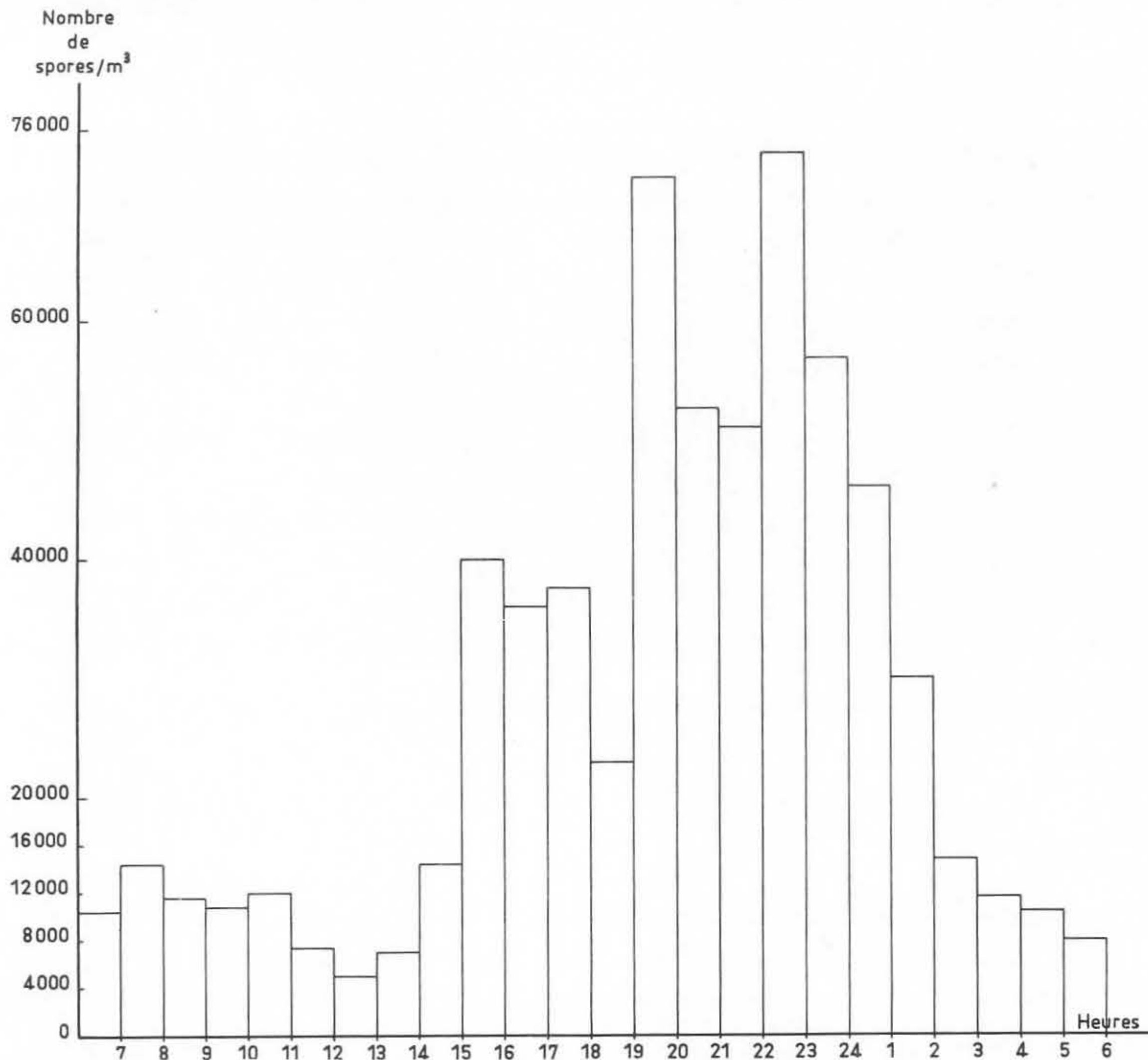



FIG. 7. — *Variation du nombre de spores récoltées selon les différentes heures du jour pendant la période considérée*

De même, au cours de la saison de végétation, la température de l'air ne semble pas avoir d'influence déterminante sur l'émission des spores. Toutefois après les premières gelées d'automne, on constate que même des conditions favorables de pluviosité n'entraînent plus d'importantes récoltes de spores. A partir du 21 novembre les lames ne portent plus d'ascospores ; mais cette diminution d'activité peut également être considérée comme résultant d'un rythme annuel propre au *Lophodermium pinastri*, car il devient également difficile, au laboratoire, d'obtenir des projections d'ascospores.

## III. — DISCUSSION

Le choix qui a été fait du piège à spores de Hirst, pour les prélèvements de spores du *Lophodermium pinastri*, a été motivé par les qualités particulières de cet appareil. Il effectue un échantillonnage continu 24 heures sur 24, pendant une saison de végétation, à condition de disposer en forêt du personnel et du matériel nécessaires. L'échantillonnage a l'intérêt d'être isocinétique, c'est-à-dire que pour les spores suffisamment lourdes, la correction due à la vitesse du vent peut être négligée, la vitesse de succion à travers l'orifice étant constante.

De plus les spores se déposent de façon définitive en s'étalant dans le temps tout au long d'une lame qui peut être observée dans le calme du laboratoire, l'hiver suivant la récolte et surtout cette récolte peut être reliée aux conditions météorologiques de l'instant. Enfin l'appareil fournit une estimation assez exacte du nombre de spores présentes dans un volume donné d'air, chiffre en liaison étroite avec le potentiel infectieux du champignon.

Malheureusement l'appareillage et la méthode d'analyse des récoltes ne sont pas sans défauts.

Il y a d'abord les défauts du piège lui-même avec possibilités de pannes de l'aspiration ou même de l'alimentation en électricité. Nous avons également constaté sur quelques lames (16 juillet, 12 août et 15 septembre) par suite de pluies d'orage importantes et obliques, que de l'eau avait pénétré directement par l'orifice, avait été projetée sur la vaseline qu'elle avait plus ou moins délavée. De plus nous avons toujours constaté que les impacts de spores étaient plus nombreux au voisinage du grand axe de la lame.

Nous avons donc été contraints au cours de l'analyse d'éliminer certains jours, de prendre un soin particulier aux observations à certaines heures, par exemple à la période du changement de la lame, et d'échantillonner de part et d'autre du grand axe de la lame.

D'autres causes d'erreurs peuvent encore être invoquées : une fraction seulement des spores est échantillonnée puisqu'elles se libèrent surtout au niveau du sol et que notre échantillonnage est effectué à 50 centimètres. Ce risque a été signalé par Ingold, mais cette hauteur de récolte a été choisie intentionnellement pour sa signification biologique. Le plus grave risque d'erreur provient d'éventuelles confusions avec d'autres spores, qu'ont notées Hirst et Pawsey. Notre méthode permet de reconnaître avec une bonne certitude les spores assez caractéristiques du *L. pinastri* ; mais il n'est pas impossible que des confusions aient pu se produire (fig. 15 et 16). Enfin lorsque les récoltes sont pléthoriques, il devient difficile de compter les spores et seuls plusieurs échantillonnages effectués par plusieurs observateurs permettent d'obtenir des chiffres corrects (fig. 13 et 14).

## CONCLUSION

Néanmoins, quels que soient la longueur, les difficultés et les risques de cette analyse, nous avons obtenu des résultats très précieux au cas particulier et en accord avec les trop rares travaux d'épidémiologie consacrés aux Discomycètes.

L'influence prépondérante des pluies recoupe exactement les observations au laboratoire sur les conditions des décharges d'ascospores. Un pluviomètre enregistreur nous aurait permis de préciser le délai nécessaire entre la chute de pluie et le maximum de dissémination. Nous l'avons estimé à 6 à 8 heures d'après les études *in vitro*.

Pour ce qui intéresse les traitements chimiques, les conditions de maturation des spores et leur taux de germination étant connus (LANIER, 1968), les conditions de leur libération et de leur dissémination étant mieux précisées, nous avons pu dater le premier traitement pour 1968 (15 juillet) et préconiser un renouvellement début août, pour tenir compte de la forte pluviosité estivale dans l'est de la France. Les récoltes d'ascospores en cours nous dirons si les observations de 1967 sont confirmées en 1968.

*Reçu pour publication en janvier 1969.*

## REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier M. l'Agent technique des Eaux et Forêts GRIES, responsable du poste météorologique de Soufflenheim-Haguenau.

## SUMMARY

CONTRIBUTION TO THE STUDY OF *LOPHODERMIUM PINASTRI* (SCHRAD.) CHEV. : RESULTS OF 1967 SPORE CAPTURE

During the 1967 vegetative season we captured ascospores released by *Lophodermium pinastri* in a Scots pine forest at Haguenau. They were taken in a Hirts spore trap.

The results confirm the observations of previous writers, on the relationship between the emission of filiform spores and precipitation. The wetting needed to secure emission explains the delay, estimated in the laboratory at 6-8 hours, between the occurrence of rain and spore discharge.

A few exceptional days gave spore counts exceeding 10 000 per cubic metre. This coincided with the most active germination period.

Although the technique could be improved still further, it is now possible accurately to time spray applications.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES


GREGORY P. H., 1952. Presidential address. Fungus spores. *Trans. brit. mycol. Soc.*, **35**, 1, 1-18.

HIRST J. M., 1952. An automatic volumetric spore trap. *Ann. appl. Biol.*, **39**, 2, 257-265.

HIRST J. M., 1953. Changes in atmospheric spore content : diurnal periodicity and the effects of weather. *Trans. brit. mycol. Soc.*, **36**, 385-393.

INGOLD C. T., 1960. Dispersal by air and water. The take-off (in HORSFALL J. C. and DIMOND A. E.). *Plant Pathol.*, **3**, 137-168.

JANCARIK V., 1965. Synergetic effectiveness of organic fungicides. Zineb and TMTD in combinaison with simazin against the Scots Pine needle-cast. *Commun. Inst. forest. Cechosl.*, **4**, 227-234.

LANIER L., 1965. Contribution à l'étude du Rouge cryptogamique des Pins dû à *Lophodermium pinastri*, (SCHRAD.) CHEV. *Rev. forest. fr.*, **17**, **5**, 354-364.

LANIER L., 1968, Contribution à l'étude du Rouge cryptogamique du Pin sylvestre dû au *Lophodermium pinastri* (SCHRAD.) CHEV. Germination des ascospores. *Ann. Sci. forest.*, **25**, 2, 69-81.

MENZEL K., 1959. Vier Jahre Kiefernschüttebekämpfung im Staatlichen Forstamt Kleve. *Allg. Forstztg.* **14**, 467-468.

PAWSEY R. G., 1967. Spore discharge of *Naemacyclus niveus* following rainfall. *Trans. brit. mycol. Soc.*, **50**, 3, 341-347.

RACK K., 1965. Über die Wirkung von Zineb während des Infektionsverlaufes der Kiefernschütte. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz*, **72**, 3, 132-152.

SCHÜTT P., 1964. Der Schüttebefall der Kiefer in Abhängigkeit von Herkunft und Anbauort. *Fortsw. Cbl.*, **83**, 5/6, 129-192.

ZÖTTL H., JUNG J., 1964. Ernährungszustand und *Lophodermium*-Befall von *Pinus silvestris*. *Naturwissenschaften*, **24**, 643.

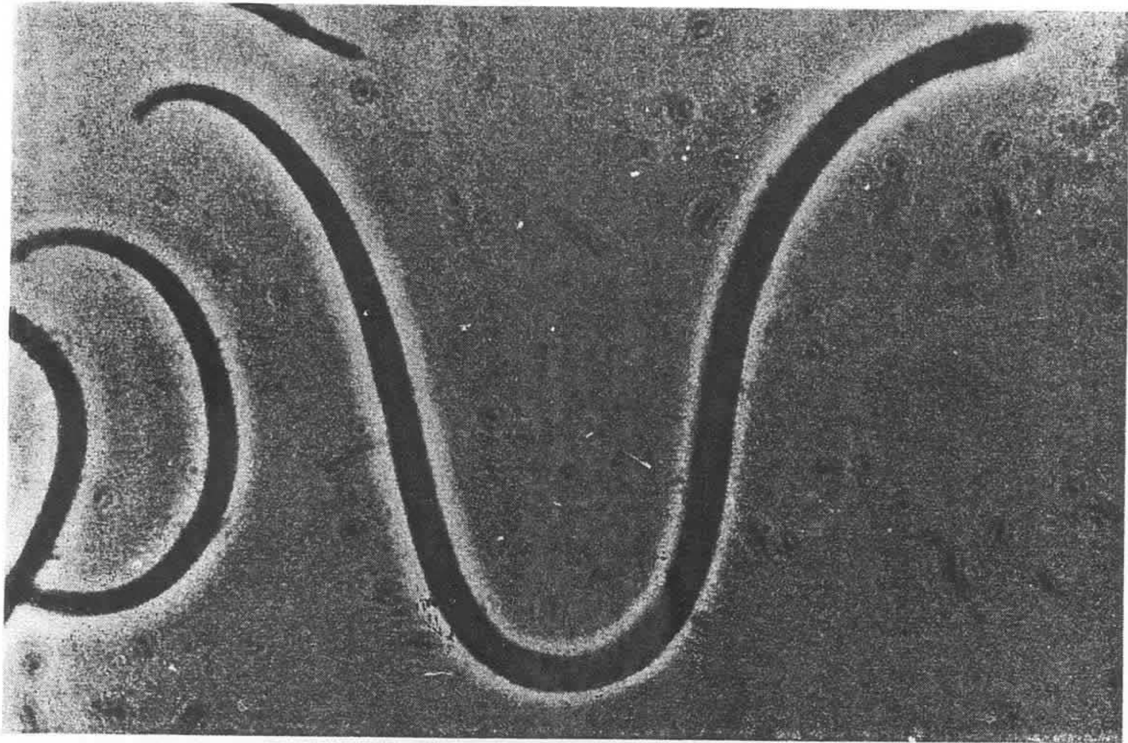


FIG. 8. — *Ascospore du* Lophodermium pinastri
Noter l'arrondi d'une extrémité et l'effilé de l'autre
(Forme générale nématode)

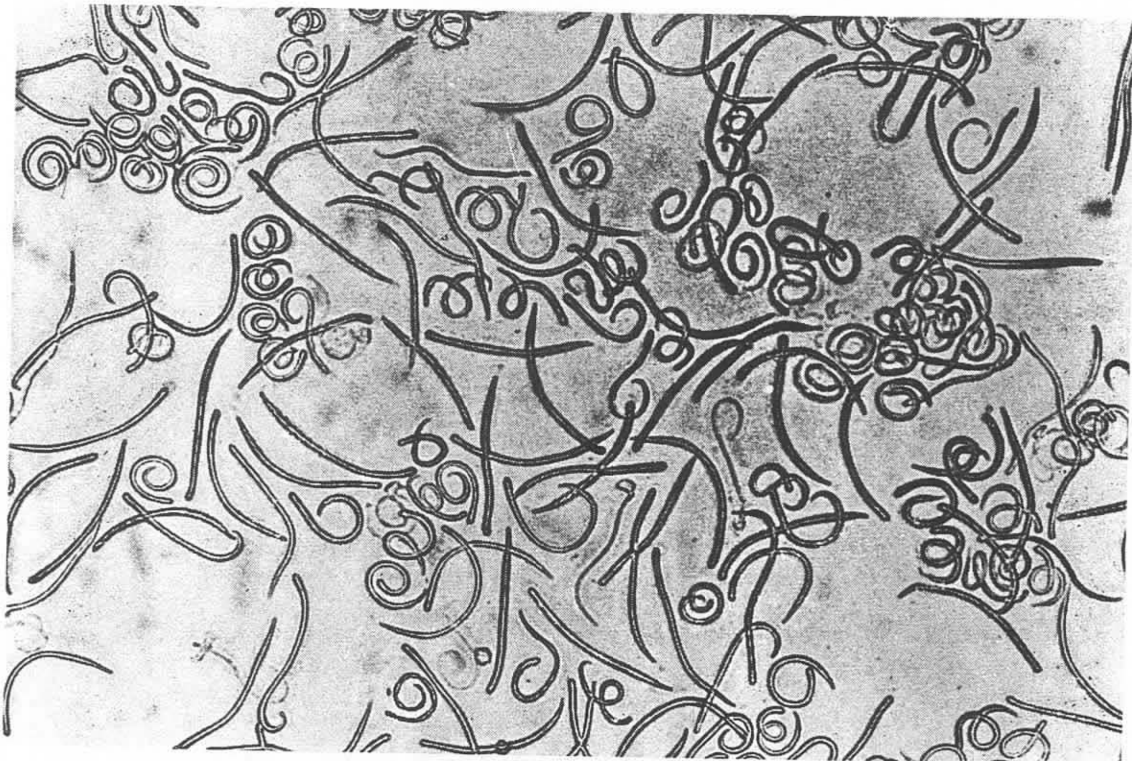


FIG. 9. — *Projection de référence sur agar au malléa*



FIG. 10. — *Hystérothécie dilatée prête à projeter ses spores*

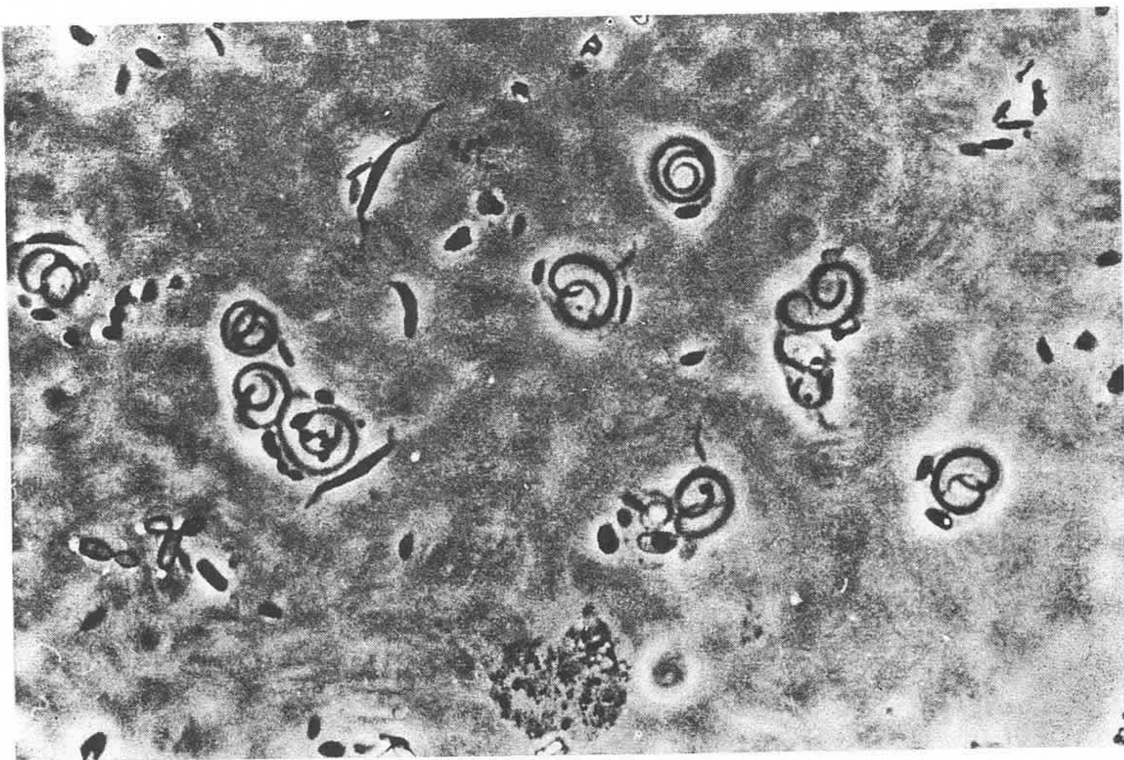


FIG. 11. — *Quelques exemples de récolte au piège à spores*
Récolte faible 14-8-1967, 22 heures

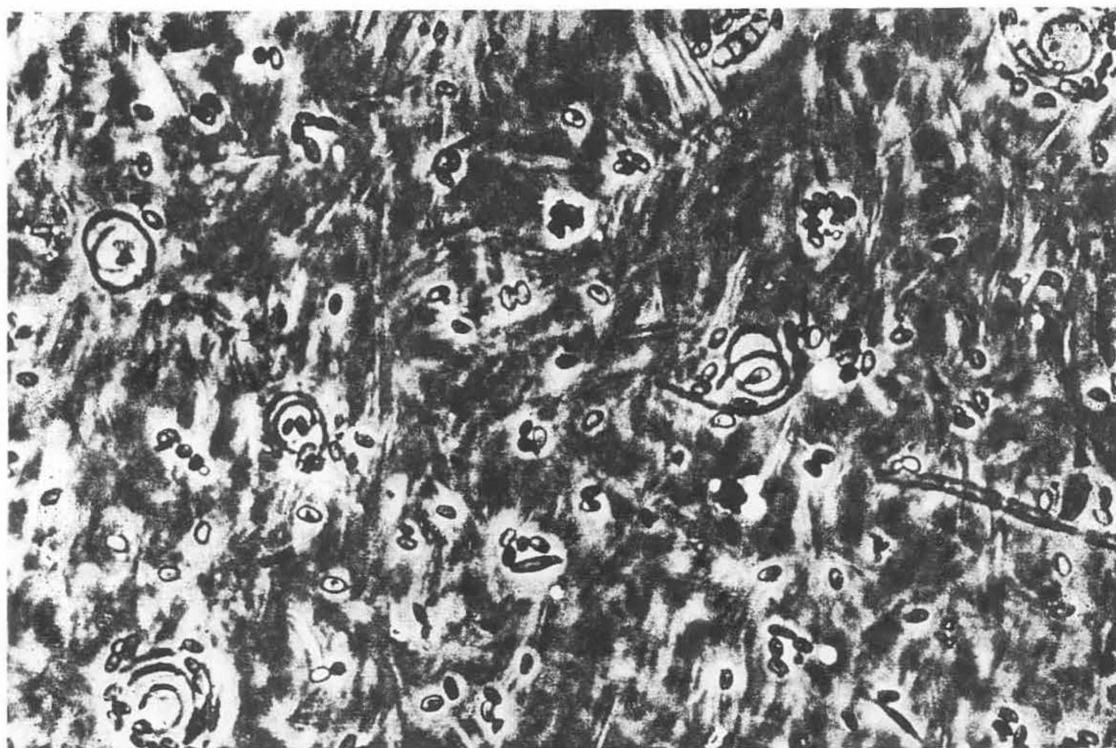


FIG. 12. — *Récolte faible,* 21-9-1967, 21 heures
(Noter l'aspect enroulé des spores)

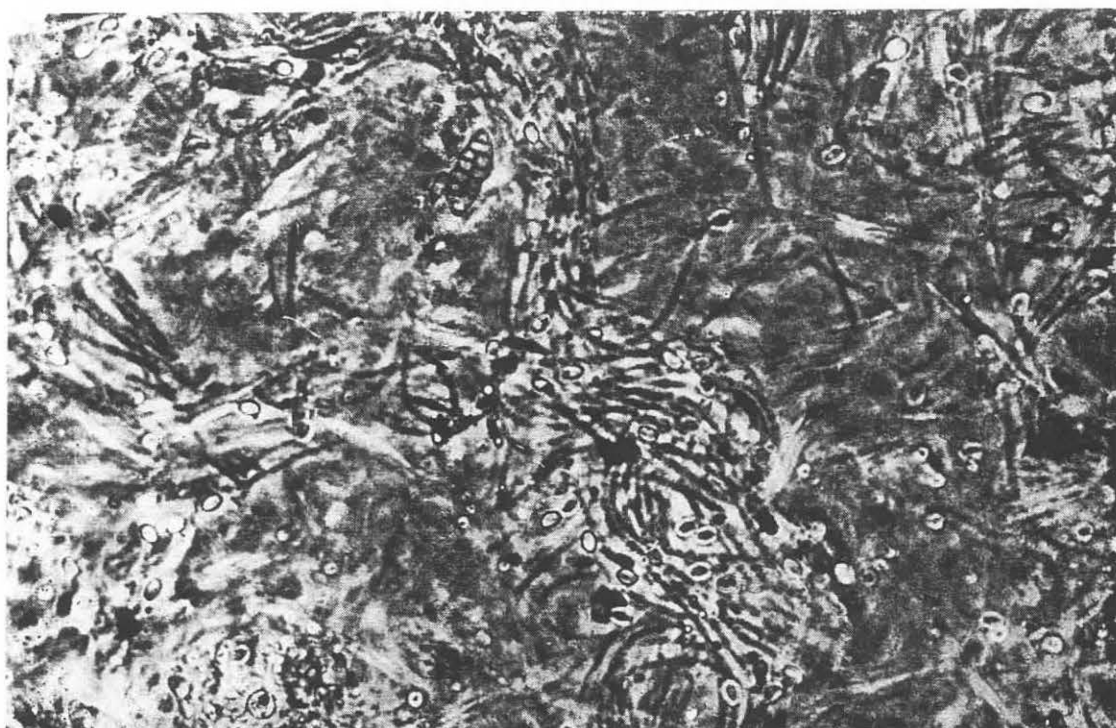


FIG. 13. — *Récolte abondante,* 19-9-1967, 16 heures



FIG. 14. — *Récolte très abondante*, 19-9-1967, 20 heures

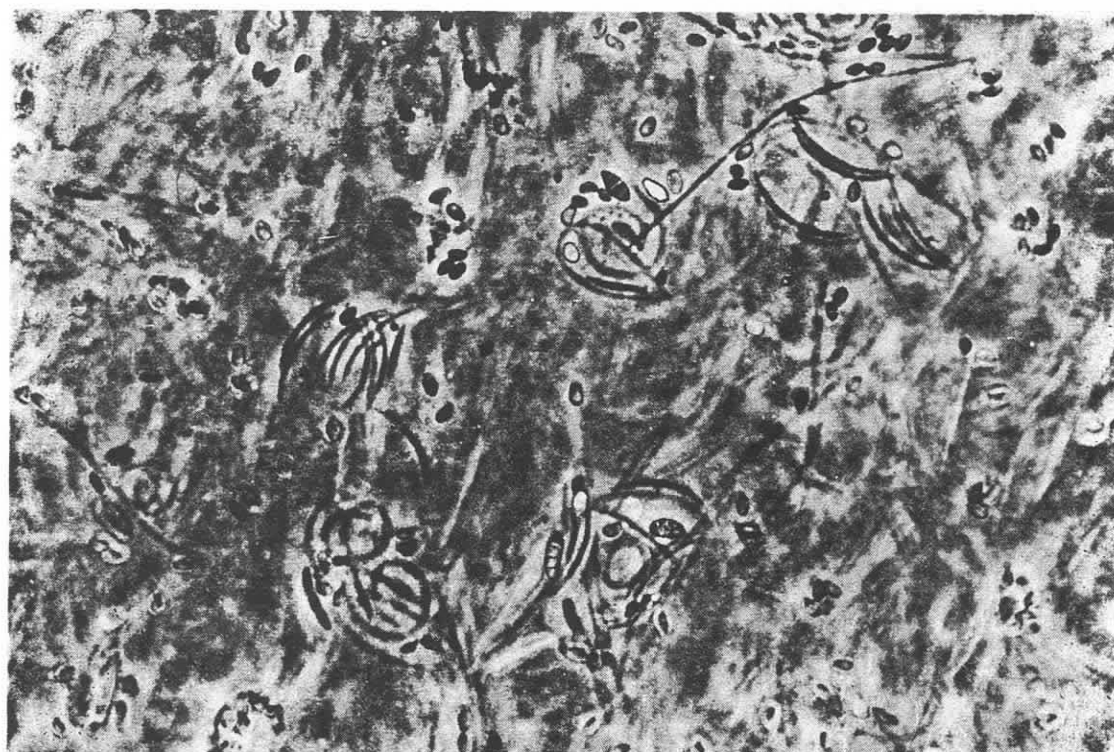


FIG. 15. — *Risques de confusion avec d'autres spores filiformes*

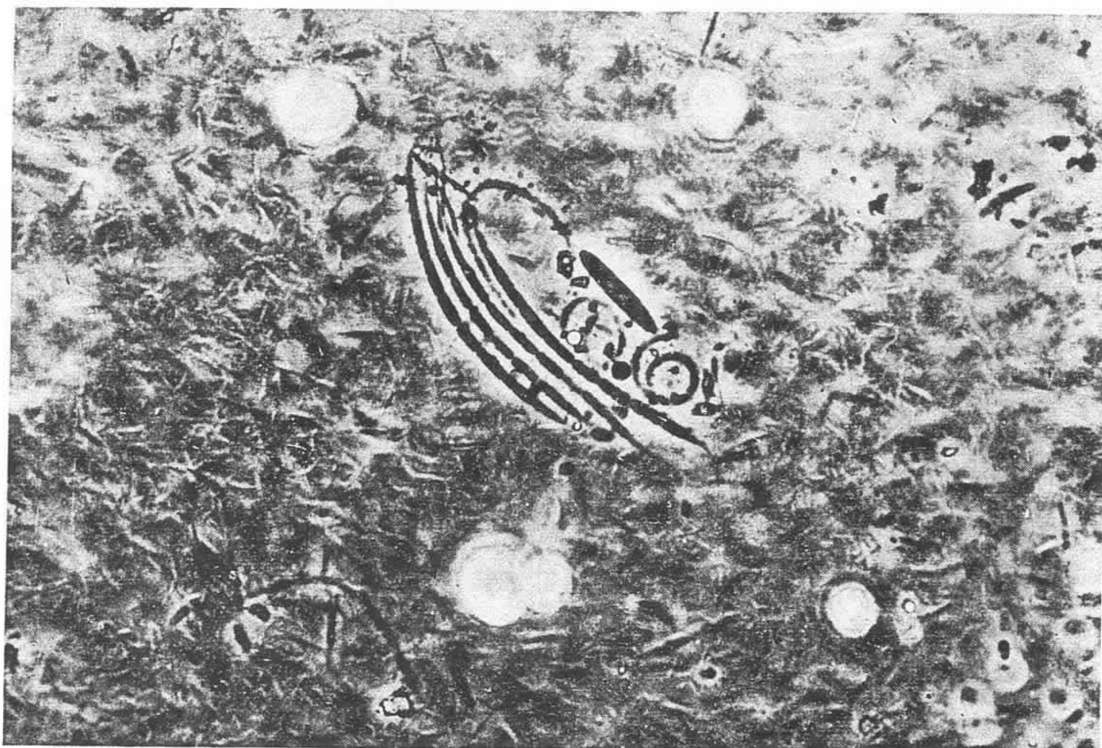


FIG. 16. — *Risques de confusion avec d'autres spores filiformes*
(Ici, spores septées)

## ANNEXE

### Liste des Ascomycètes à spores filiformes susceptibles d'être relevés dans un peuplement de Pin sylvestre du type observé

| Espèces possibles | Hôtes | Références (1) |
|---|---|---|
| **Coccomyces* ssp | *Pinus sylvestris* | R 81 |
| | *Rubus idaeus* | R 81 |
| *Coccophacidium pini* | *Pinus sylvestris* | R 98 |
| *Godronia ericae* | *Calluna* | R 240 |
| *Lophium elatum* | *Pinus sylvestris* | R 26 |
| **Lophium mytilinum* | *Pinus sylvestris* | R 26 |
| | *Abies. Juniperus* | |
| *Lophodermium arundinaceum* | *Molinia. Carex* | R 45 |
| | Graminées div. | |
| *Lophodermium laricinum* | *Pinus sylvestris* | R 44 |
| **Lophodermium pinastri* | *Pinus sylvestris* | R 43 |
| **Naemacyclus niveus* | *Pinus sylvestris* | R 174 |
| *Naemacyclus histerioides* | *Pinus sylvestris* | R 162 |
| *Ostropa cinerea* | feuillus divers | R 188 |
| *Robergea unica* | feuillus divers | R 190 |
| *Schizoxylum insigne* | *Pinus sylvestris* | R 1253 |
| *Schizoxylum* ssp. | *Rubus* | R 182 |
| *Stictis carestiae* | *Pinus sylvestris* | R 175 |
| | *Abies* | |
| **Stictis discolor* | *Pinus sylvestris* | R 180 |
| *Stictis fimbriata* | *Pinus sylvestris* | R 1218 |
| *Stictis radiata* | *Pinus sylvestris* | R 179 |
| *Stictis sphaeroides* | *Pinus sylvestris* | R 339 |
| *Stictis* ssp. | *Luzula. Carex. Aira* | R 179, 180 |

(1) R = *Rabenhorst Kryptogamen-Flora.*
* Présence certaine à Haguenau.